

Vysoká škola báňská – Technická univerzita Ostrava

Univerzitní studijní programy

# **Nanokompozity na bázi oxidů kovů a jejich antibakteriální stabilita**

**Nanocomposites based on metal oxides and their  
antibacterial stability**

Student: Marta Bukáčková

Vedoucí bakalářské práce: Ing. Karla Čech Barabaszová, Ph.D.

Sídlo školy: Ostrava

2012

## Zadání bakalářské práce

Student: **Marta Bukáčková**  
Studijní program: B3942 Nanotechnologie  
Studijní obor: 3942R001 Nanotechnologie  
Téma: **Nanokompozity na bázi oxidů kovů a jejich antibakteriální stabilita**  
**Nanocomposites based on metal oxides and their antibacterial stability**

### Zásady pro vypracování:

Cílem bakalářské práce bude sledování vlivu přípravy částic nanokompozitů oxidů kovů na antibakteriální stabilitu/vlastnosti. Pozornost bude věnována studium vlivu nereaktivní jílové podložky na stabilitu a morfologii nanokompozitních systémů. Bakalářská práce bude tvořena třemi částmi, které budou dále členěny:

1. Teoretická část bude řešena formou literární rešerše na téma:
  - oxid zinečnatý, oxid měďnatý, nanokompozity na bázi Zn-Cu-O a Zn-Cu-O-vermikulit
  - antibakteriální stabilita
  - mechanická příprava nanokompozitů pomocí mechanochemické aktivace a ultrazvukového působení.
2. Experimentální část bude zaměřena na:
  - přípravu nanokompozitů na bázi ZnO-CuO a ZnO-CuO-vermikulit
  - testování antibakteriálních vlastností
  - charakterizaci nanokompozitů pomocí rentgenová difrakční analýza, infračervené spektroskopie a skenovací elektronová mikroskopie.

### Seznam doporučené odborné literatury:

1. Zi-Ling L., et al. Fabrication and photocatalysis of CuO/ZnO nano-composites via a new method. *Materials Science and Engineering B*. 158, 2008, 99-104.
2. Bayansal F., et al. Growth of homogenous CuO nano-structured thin films by a simple solution method. *Journal of Alloys and Compounds*. 509, 2011, 2094-2098.
3. Ki-Young Y., et al. Susceptibility constants of Escherichia coli and Bacillus subtilis to silver and copper nanoparticles. *Science of the Total Environment*. 373, 2007, 572-575.
4. Guogang R., et al. Characterisation of copper oxide nanoparticles for antimicrobial applications. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 33, 2009, 587-590.
5. Sathishkumar P. et al. Synthesis of CuO-ZnO nanophotocatalyst for visible light assisted degradation of a textile dye in aqueous solution. *Chemical Engineering Journal*. 171, 2011, 136-140.

Formální náležitosti a rozsah bakalářské práce stanoví pokyny pro vypracování zveřejněné na webových stránkách fakulty.

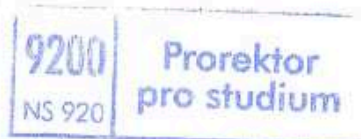
Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Karla Čech Barabaszová, Ph.D.**

Datum zadání: 2. 11. 2011

Datum odevzdání:



prof. Ing. Jaromír Pištora, CSc.  
vedoucí katedry



prof. Ing. Petr Noskievič, CSc.  
prorektor pro studium



Prohlašuji, že:

- Jsem byl seznámen s tím, že na moji bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména § 35 – užití díla v rámci občanských a náboženských obřadů, v rámci školních představení a užití díla školního a § 60 – školní dílo.
- Beru na vědomí, že Vysoká škola báňská – Technická univerzita Ostrava (dále jen „VŠB-TUO“) má právo nevýdělečně ke své vnitřní potřebě bakalářskou práci užít (§ 35 ods. 3).
- Souhlasím s tím, že bakalářská práce bude v elektronické podobě uložena v Ústřední knihovně VŠB-TUO k nahlédnutí a jeden výtisk bude uložen u vedoucího bakalářské práce. Souhlasím s tím, že údaje o kvalifikační práci budou zveřejněny v informačním systému VŠB-TUO.
- Bylo sjednáno, že s VŠB-TUO, v případě zájmu z její strany, uzavřu licenční smlouvu s oprávněním užít dílo v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona.
- Bylo sjednáno, že užít své dílo – bakalářskou práci, nebo poskytnout licenci k jejímu využití mohu jen se souhlasem VŠB-TUO, která je oprávněná v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly VŠB-TUO na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše).
- Beru na vědomí, že odevzdáním své práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1988 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, bez ohledu na výsledek její obhajoby.

V Ostravě dne: .....

Podpis: .....

Jméno a příjmení autora práce: Marta Bukáčková

Adresa trvalého pobytu autora práce: Korunní 974/74, Ostrava Mariánské Hory, 709 00

Marta Bukáčková: Nanokompozity na bázi oxidů kovů a jejich antibakteriální stabilita.

Především chci poděkovat své vedoucí bakalářské práce paní Ing. Karle Čech - Barabaszové, Ph.D. za odborný přístup, cenné rady a za pomoc při zpracování mé bakalářské práce.

Prohlašuji, že jsem celou bakalářskou práci vypracovala samostatně a uvedla jsem všechny použité podklady a literaturu. Souhlasím s tím, že s výsledky mé bakalářské práce může být naloženo dle uvážení vedoucího bakalářské práce jako jejího spoluautora a doporučení vedoucího institutu.

V Ostravě dne.....

podpis bakalářky.....

Marta Bukáčková: Nanokompozity na bázi oxidů kovů a jejich antibakteriální stabilita.

## **Abstrakt**

Cílem bakalářské práce je příprava nanokompozitů na bázi oxidů kovů a testování jejich antibakteriální stability. Nanokompozity byly připraveny mechanochemickou syntézou. Byly připraveny oxidy kovů a jejich nanokompozity na bázi CuO, ZnO, CuO/vermikulit, ZnO/vermikulit, Zn-Cu-O a Zn-Cu-O/vermikulit. Připravené vzorky byly charakterizovány pomocí skenovací elektronové mikroskopie, rentgenové difrakce a Ramanovy spektroskopie. U připravených vzorků byla testována antibakteriální stabilita.

## **Abstract**

The aim of the theses is preparation of nanocomposites on metal oxides base and testing their antibacterial stability. Nanocomposites were prepared by mechanochemical syntheses. It were prepared metal oxides and their nanocomposites of CuO, ZnO, CuO/vermiculite, ZnO/vermiculite, Zn-Cu-O and Zn-Cu.O/vermiculite base. The samples were characterized using the scanning electron microscopy (SEM), X-ray Diffraction and Raman Spectroscopy. The samples were tested on antibacterial stability.

## OBSAH

1. TEORETICKÁ ČÁST BAKALÁŘSKÉ PRÁCE .....	10
1.1. Antibakteriální stabilita.....	10
1.2. Oxidy kovů pro antibakteriální nanokompozity .....	11
1.2.1. Oxid zinečnatý .....	11
1.2.2. Oxid měďnatý .....	13
1.2.3. Vermikulit.....	15
1.3. Mechanochemická příprava nanokompozitů .....	18
2. CÍLE BAKALÁŘSKÉ PRÁCE.....	20
3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST BAKALÁŘSKÉ PRÁCE.....	21
3.1. Mechanochemická příprava nanokompozitů .....	21
3.2. Charakterizace nanokompozitů.....	22
3.2.1. Skenovací elektronová mikroskopie .....	22
3.2.2. Rentgenová difrakční analýza - popis metody, výsledky .....	25
3.2.3. Infračervené spektroskopie - popis metody, výsledky.....	27
3.3. Antibakteriální testy nanokompozitů.....	30
ZÁVĚR .....	35
Literatura.....	36



## ÚVOD

Bakterie patří mezi nejnebezpečnější hrozby pro lidské zdraví. Existuje množství bakterií, se kterými se setkáváme denně. Některé z nich jsou pro fungování lidského organismu nutné (např. bakterie ve střevech), jiné představují pro lidi nebezpečí, někdy až smrtelné.

Bakterie jsou organizmy, které se ve vhodném prostředí dokážou množit obrovskou rychlostí. Za 11 hodin může dojít k rozmnožení až na pětimiliardovou populaci. Díky těmto vysokým schopnostem rozmnožování dochází snadno i k přizpůsobování se okolí, ve kterém bakterie parazituje.

Díky těmto mechanismům přizpůsobování se svému okolí se bakterie stávají rezistentní vůči antibiotikům, které se na léčení nemocí způsobených bakteriemi běžně používají. Proto je velkou výzvou objevovat nové látky působící proti bakteriím jinými mechanismy. Mezi tyto materiály se řadí i nanočástice některých kovů, které prokazují silné antibakteriální vlastnosti a velkou výhodou oproti antibiotikům je, že působí na bakterie jinými mechanismy, vůči kterým se bakterie nemůžou stát rezistentní.

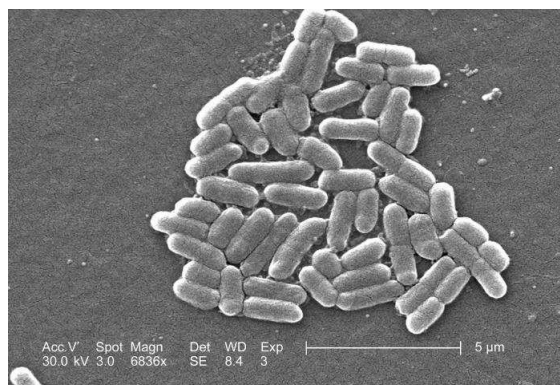
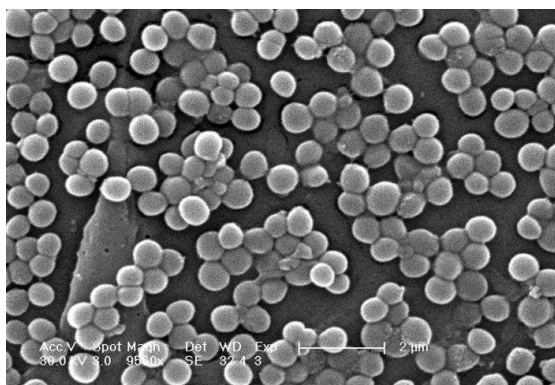
Hlavním cílem bakalářské práce je studovat antibakteriální stabilitu nanokompozitů na bázi oxidů kovů.

# 1. TEORETICKÁ ČÁST BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

## 1.1. Antibakteriální stabilita

Antibakteriální vlastnost je schopnost látky zabíjet nebo inhibovat růst mikrobů a mikrobiologických organizmů [1]. Materiál (či látka) je považována za antibakteriálně stabilní, pokud projevuje své antibakteriální vlastnosti nejen jednorázově, ale i po delší časový úsek.

Začátkem 20. století byly bakterie velmi nebezpečnou hrozbou pro lidské zdraví. Mnoho lidí umíralo, protože lékaři nevěděli jak tyto nemoci způsobované bakteriemi léčit. Proti patogenním bakteriím byly objeveny antibiotika, které působí selektivně. To znamená, že jsou toxické pro bakterie a ne pro jejich hostitele – člověka. Mechanizmů působení antibiotik je několik. Mezi ty nejběžnější patří např. syntéza buněčné stěny, syntéza bílkovin, či syntéza nukleových kyselin. V posledních letech ovšem opět začínají být některé bakterie vážnými hrozbami, protože se stávají rezistentní vůči působení antibiotik. Mezi tyto patří např. MRSA (methycilin-rezistentní *Staphylococcus aureus*) (Obr. 1a)), *Escherichia coli* (Obr. 1b)), *Bacillus subtilis*, bakterie rodu *Pseudomonas*... atd. Tyto bakterie se ve zvýšené míře vyskytují v nemocničním prostředí, kde pak způsobují řadu infekcí, které je problém léčit, protože dostupná antibiotika vůči nim nepůsobí [2].



**Obr. 1:** a) MRSA [3] b) Buňka *Escherichia coli* [4].

Pokud chceme dosáhnout snížení množství používaných antibiotik a překonat rezistenci vůči nim, musí být objeveny antibakteriální látky u nichž je účinek založen na

jiném mechanismu, které používání antibiotik nahradí. V posledních letech jsou mimo jiné připravovány i jílové antibakteriální komplexy. Tyto komplexy prokazují vysokou antibakteriální stabilitu [5].

Redukce velikosti částic z velikosti mikrometrů do řádu nanometrů přináší radikální změny ve vlastnostech látek. Antibakteriální stabilita nanočástic kovů se mění s velikostí částic a poměrem povrch - objem. Tyto charakteristiky dovolují částicím blíže interagovat s membránami bakterií, než je to pouze v případě uvolňování iontů kovů. Kovové nanočástice jsou kombinovány s polymery nebo přimíchávány na povrchy minerálů, které by mohly mít velmi různorodé použití v antibakteriálních aplikacích [6].

Na antibakteriální materiály je kladen veliký důraz v celé řadě odvětví. Např. desinfekce vody, výroba textilií, balení potravin, medicína, potravinářství atd. Organické sloučeniny, které jsou tradičně používány k desinfekci vykazují několik nevýhod, včetně toxicity pro lidské tělo a citlivosti na vyšší teploty a tlaky, které jsou přítomny v mnoha technologických procesech. A právě z těchto důvodů roste zájem o desinfekci na základě nanočástic oxidů kovů. Tyto anorganické sloučeniny vykazují silné antibakteriální vlastnosti již při nízkých koncentracích a rovněž jsou stabilní i v extrémních podmínkách. Zatím jsou považovány za netoxické a některé z nich dokonce obsahují elementy, které jsou nepostradatelné pro lidské tělo [7].

## **1.2. Oxidy kovů pro antibakteriální nanokompozity**

### ***1.2.1. Oxid zinečnatý***

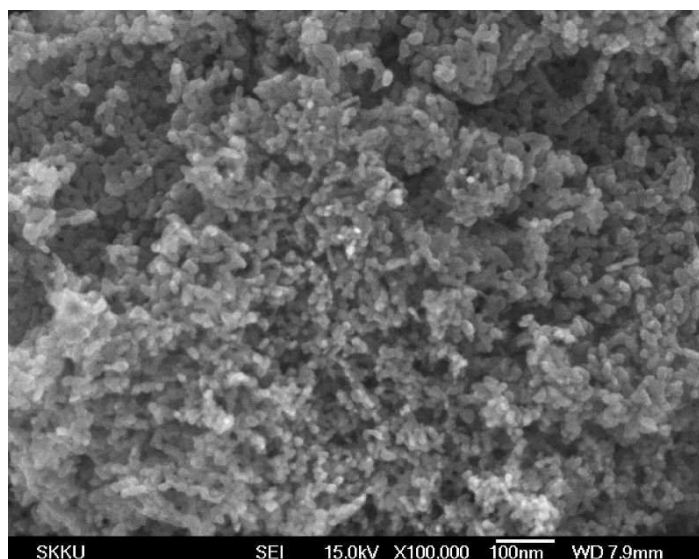
Oxid zinečnatý - ZnO (Obr. 2) je bílá práškovitá látka, po chemické stránce oxid kovu. Jeho vlastnosti jsou silně závislé na typu a podmínkách přípravy a externích podmínkách (reakční teplota, koncentrace reaktantů a typů použitých prostředků) během vzniku nanostruktur [8].



**Obr. 2:** Oxid zinečnatý [9].

ZnO patří do skupiny kovových oxidů, charakterizovaných fotokatalytickými a fotooxidačními procesy vůči chemickým a biologickým látkám. Oxidy kovů, jako je např. CuO, ZnO, Ag<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, TiO<sub>2</sub>, můžou díky své netoxicitě, chemické stabilitě a efektivním antibakteriálním schopnostem posloužit pro desinfekci. Mezi nanočásticemi oxidů kovů prokazuje ZnO velkou inhibici širokého spektra bakterií (např. Escherichia coli, Bacillus subtilis, Streptococcus aureus), vysokou stabilitu a netoxicitu vzhledem k lidskému tělu [10, 11].

Baktericidní vlastnosti (schopnost zabíjet bakterie a přitom neškodit ostatním živým organismům) nanočástic ZnO jsou založeny na elektrostatické interakci mezi nanočásticemi a povrchem buněk. Zvyšující se soudržnost působících nanočástic má za následek zvýšené poškození patogenních buněk. Toxický efekt (překročení množství toxické látky, která již začíná na bakterie působit) nanočástic ZnO k patogenním druhům bakterií se zvyšuje při delším kontaktu mezi membránou buňky bakterie a nanočásticemi. Bakterie je chráněna tukovou dvojvrstvou na povrchu, která je roztržena a má za následek odvodnění cytoplazmatického obsahu buňky [8].



**Obr. 3:** SEM snímek nanočástic ZnO [12].

Výhoda používání nanočástic ZnO (Obr. 3) je v tom, že silně inhibuje patogenní mikroorganismy i v malých koncentracích. Navíc jsou stále a prokazují velikou selektivitu působení a tepelnou rezistivitu. Z tohoto plyne i možné využití nanočástic ZnO. Vzhledem k antibakteriálním a antimykotickým účinkům (toxický vůči plísním) lze použít tyto částice při výrobě tenkých antibakteriálních nátěrů [8].

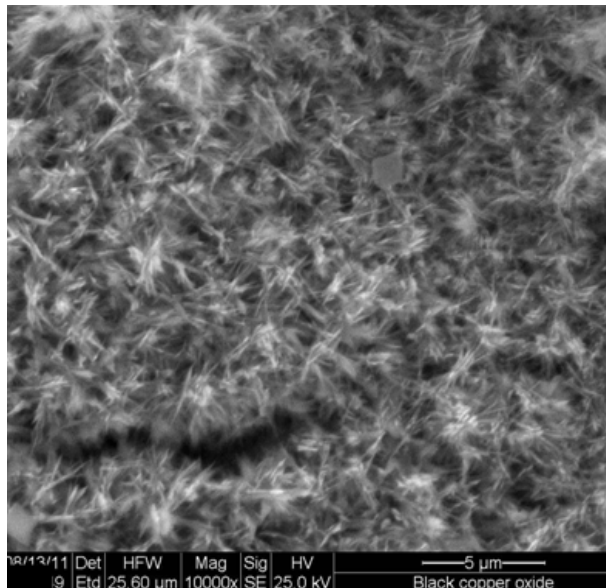
### ***1.2.2. Oxid měďnatý***

Měď a měďnaté sloučeniny se využívají k desinfekci kapalin, pevných látek a lidských tkání po staletí. Dnes se měď využívá k čištění vody, jako fungicid (k likvidaci hub), k odstraňování řas, měkkýšů, stejně jako antibakteriální prostředek proti hnilobě. Měď také patří k relativně malé skupině kovů, které jsou nezbytné pro lidské tělo. Označujeme ji jako biogenní prvek. Tyto prvky společně s aminokyselinami, mastnými kyselinami a vitamíny jsou potřebné pro metabolické procesy. Na rozdíl od nízké citlivosti lidské tkáně na měď, mikroorganismy jsou na ni velice citlivé [13].

Nanočástice mědi (1-100 nm) mají velký specifický povrch, nízký elektrický odpor, silně ovlivňují okolní částice v nano i makro měřítku. V poslední době je na výrobu a aplikaci těchto prášků kladen velký důraz. Nanočástice mědi mohou být používány pro výrobu vodivých kapalin, které jsou využívány v mikroelektronice, jako mazadla, představují důležitou roli v miniaturizaci mikroelektronických elementů a např. v chemickém inženýrství mohou být využívány jako katalyzátory (např. polymerizace ethylenu) [14].

Marta Bukáčková: Nanokompozity na bázi oxidů kovů a jejich antibakteriální stabilita.

Existuje několik mechanismů přípravy nanočástic mědi (Obr. 4), např. mechanochemické procesy, metoda výroby z plazmy, metodou ozáření hydrotermické krystalizace  $\gamma$ -paprskem, chemickou redukcí hydrátu hydrazinu atd. Připravené nanočástice mědi velmi snadno zoxiduují [14].

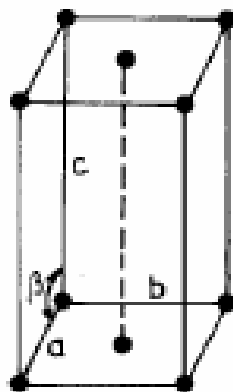


**Obr. 4:** SEM fotografie CuO nanočástic [15].



**Obr. 5:** Prášek CuO [16].

Oxid měďnatý – CuO (Obr. 5) je polovodičová sloučenina s monoklinickou bazálně centrovanou krystalovou strukturou (Obr. 6). CuO má nejjednodušší strukturu ze sloučenin mědi a vykazuje širokou řadu fyzikálních vlastností, jako je např. vysokoteplotní supravodivost a dynamický spin [6].



**Obr. 6:** Monoklinická bazálně centrovaná krystalová struktura [17].

CuO se používá v různých aplikacích jako jsou plynové senzory, katalýzy (oxidace, hydrogenace atd.), baterie (lithiové články), vysokoteplotní supravodiče, při konverzi solární energie na polí úspory energie, přenos energie přes tekutiny s nanočásticemi CuO může zlepšit viskozitu tekutin a zlepšit teplotní konduktivitu [6].

Vzhledem k antibakteriálním vlastnostem, které prokazují ZnO a CuO je zřejmé, že podobně i nanokompozity Zn-Cu-O budou prokazovat podobné vlastnosti. V minulosti se tyto kompozity využívaly málo a to zejména v oblasti mikroelektroniky k polovodičovým aplikacím a fotokatalytickým účinkům [18].



**Obr. 7:** Vermikulit [20].

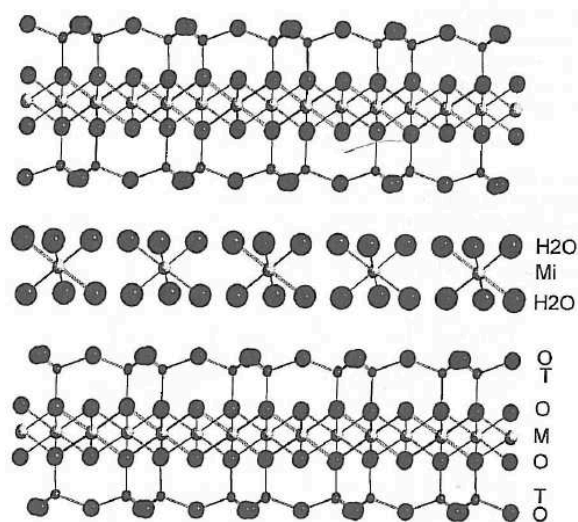
### ***1.2.3. Vermikulit***

Vermikulity (Obr. 7) jsou jílové minerály, které jsou hojně využívány jako plniva v žáruvzdorných materiálech, odlehčených betonech, plastech a nátěrových hmotách.

Marta Bukáčková: Nanokompozity na bázi oxidů kovů a jejich antibakteriální stabilita.

Tento minerál má vrstevnatou strukturu obsahující kationty, které udržují elektrickou neutralitu. Tyto mezivrstvé kationty mohou být snadno nahrazeny jinými kationty v koncentrovaných roztocích elektrolytů, které mohou vést ke změně chemických vlastností a mohou být poté používány k výrobě různých produktů [19].

Vermikulity se v přírodě velmi často vyskytují jako šupinkové agregáty, jejich krystalová struktura je tvořena 2:1 vrstvami a mezivrstevný prostor je obsazen hydratovanými výměnnými kationy (Obr. 8). Vrstvy 2:1 jsou trioktaedrické a jako dominantní oktaedrický kationt zde vystupuje Mg. Na Obr. 8 je schematicky znázorněna struktura vermikulitu s mezivrstevním prostorem tvořeným oktaedry, v nichž jsou zastoupeny centrální kationty „Mi“ (např.  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Na^{+}$ ) a v rozích oktaedrů jsou umístěny molekuly vody [21].



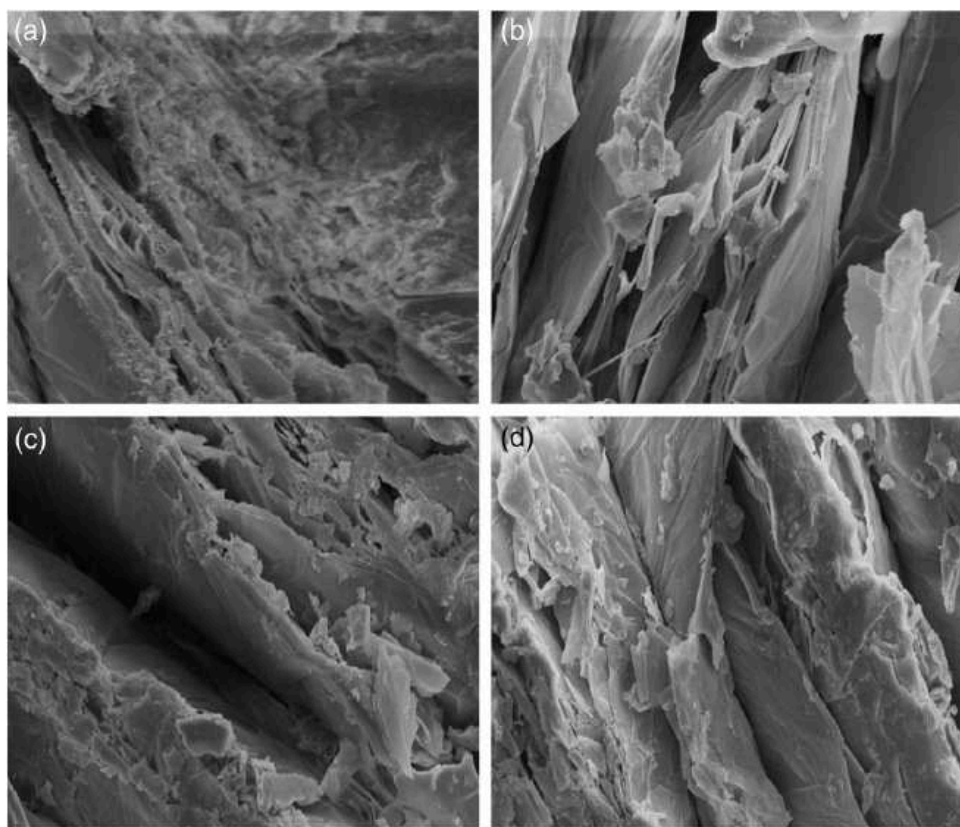
**Obr. 8:** Schematické zobrazení struktury vermikulitu [21].

Jako centrální kationty v mezivrstevných prostorech vermikulitu vystupují především ionty hořčíku, ale můžeme zde najít také ionty vápníku a sodíku. Vzhledem k tomu, že měď a hořčík mají stejné náboje a blízké atomové poloměry, hořčíkové ionty mohou být nahrazeny měďnatými ionty procesem kationtové výměny. V důsledku toho má vermikulit obsahující měď, strukturální a chemickou stabilitu stejnou jako vermikulit obsahující hořčík. Kationtová výměnná kapacita klasického vermikulitu je mezi 100mmol/100g a 150mmol/100g. To znamená, že vermikulit je schopen absorbovat 6,4 - 9,5 hmotnostních procent iontů mědi. Toto relativně velké množství mědi poskytuje potenciál vyrobit z vermikulitu velmi efektivní a trvalý antibakteriální materiál [19].



Vermikulity při rychlém zahřátí nad 230°C ztratí molekuly vody vázané v mezivrstvách a to má za následek exfoliaci (Obr. 9) a tvorbu varhánkovitých granulí. Takto upravený vermikulit je lehký a odolný k tepelnému rozkladu a proto se používá jako izolační materiál a do různých izolačních výplní. K delaminaci a redukci velikosti částic vermikulit se využívají různé techniky, např. mechanické zpracování, ultrazvuk nebo chemický proces s využitím peroxidu vodíku [22].

V posledních letech se vermikulitu hojně využívá jako nosného média při vývoji nových tříd antibakteriálních materiálů právě z důvodu vysoké kapacity iontové výměny těchto hlinitokřemičitanů v kombinaci s jinými příznivými vlastnostmi, jako je například velký specifický povrch, teplotní odolnost a chemická inertnost. Vermikulit je vhodným materiálem pro vázání stříbrných a měděných iontů [19].



**Obr. 9:** SEM, struktura vermikulitu a) surový vermikulit b) zahříváný na 300°C c) zahříváný na 600°C d) zahříváný na 900°C [22].

Ve většině dostupné literatury je vermikulit popisován jako surovina, která se dále zpracovává interkalací různých sloučenin do mezivrstev, nebo nahrazováním centrálních

kationů v mezivrstevních prostorech. Ovšem vermikulit lze také použít pro přípravu sloučenin, které nejsou vpravovány dovnitř jeho struktury, ale jsou připravovány na jeho povrchu. Při těchto aplikacích nedochází ke strukturním změnám vermikulitu. Toto je princip, na kterém je založena příprava nanokompozitů v této bakalářské práci. Takto lze třeba na vermikulitu připravit mechanochemickou cestou oxidy mědi a zinku a vzniklý nanokompozit má rovněž antibakteriální vlastnosti.

### **1.3. Mechanochemická příprava nanokompozitů**

Mechanochemická příprava je fyzikálně-chemická metoda přípravy nanokompozitů, využívající mletí anorganických látek, při kterém dochází k rozpadu vstupních látek a následnému vytváření nových aktivních povrchů s novými fyzikálně-chemickými vlastnostmi, sníženou krystalinitou a zvýšenou reaktivitou povrchu [23].

Mechanochemické procesy mohou být používány pro syntézu širokého spektra nanokrystalických částic. Výhody této metody spočívají především v nízké ceně, malé velikosti částic, nízké aglomeraci, úzkého rozptylu distribuce a velmi podobné krystalové struktuře a stavbě vzniklých částic. Příprava materiálu mechanochemickou aktivací obecně ovlivňuje strukturu materiálu, která vede ke snížení velikosti částic [24].

Mechanochemické procesy jsou charakteristické opakovaným mletím, deformací a lámáním směsí reaktantů. Chemické reakce probíhají na rozhraní nanometrických zrn, které jsou průběžně znovu vytvářeny během mletí. Za normálních podmínek by tyto reakce probíhaly pouze za zvýšených teplot, avšak v kulových mlýnech lze dojít k vzniklým produktům bez úpravy vnějších podmínek [24].

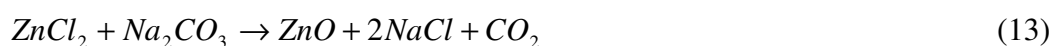
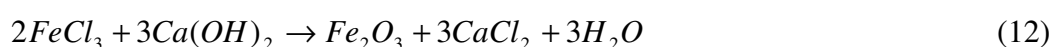
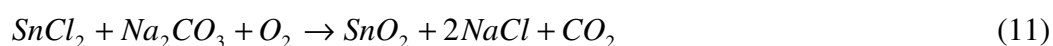
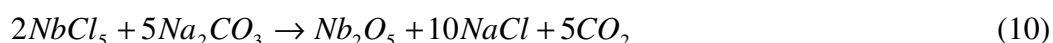
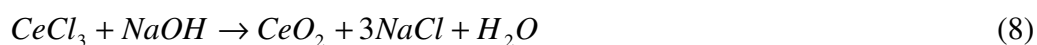
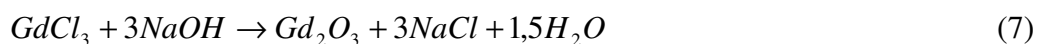
Při vybrání vhodných podmínek, jako jsou vhodná chemická cesta přípravy, stechiometrie výchozích surovin a podmínky mletí, mohou být mechanochemické cesty použity pro přípravu krystalických nanočástic rozptýlených v matrici soli. Selektivní odstranění fáze matrice propíráním ve vhodných rozpouštědlech pak vede k vzniku nanočástic o rozměrech kolem 5 nm. Kromě toho může být krystalinita vzniklých částic dále zlepšována vhodnou tepelnou úpravou ještě před odstraněním pevné fáze matrice aniž by to vyvolalo aglomeraci částic díky ukotvení nanočástic v pevné matrici [24].

Mnohé studie prokázaly mechanochemickou přípravu ultrajemných částic Fe, Co, Ni, Cu, Ag, Ta a W [24]. Reakce přípravy jednotlivých kovů lze obecně popsat následujícími reakcemi:



Uvedené reakce jsou silně exotermické, tzn. v průběhu reakce dochází k uvolňování velkého množství tepla, které má za důsledek vznik meziproduktů a proto je zapotřebí v těchto případech použít vhodných rozpouštědla. Jako inertní rozpouštědlo se používá především chlorid sodný (NaCl). Zabraňuje nežádoucímu efektu spalování a přitom je inertní vzhledem k probíhající reakci [24].

Mechanochemickými procesy lze tak vyrobit nanočástice oxidů kovů jako např. CuO, ZnO, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, ZrO<sub>2</sub>, Gd<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, CeO<sub>2</sub>, Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, SnO<sub>2</sub> a Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Syntézu oxidů nanočástic můžeme popsat např. těmito rovnicemi [24]:



Marta Bukáčková: Nanokompozity na bázi oxidů kovů a jejich antibakteriální stabilita.

## CÍLE BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Cílem bakalářské práce je sledování vlivu přípravy částic nanokompozitů oxidů kovů na antibakteriální stabilitu/vlastnosti. Pozornost je věnována studiu vlivu nereaktivní jílové podložky na stabilitu a morfologii nanokompozitních systémů.

Bakalářská práce bude členěna do tří částí:

1. *teoretická část* - bude provedena rešeršní činností na téma:

- oxid zinečnatý (ZnO), oxid měďnatý (CuO), nanokompozity na bázi Zn-Cu-O a Zn-Cu-O-vermikulit,
- antibakteriální stabilita,
- nanokompozity připravované pomocí mechanochemických postupů,

2. *experimentální část* - bude věnována:

- mechanochemické přípravě definovaných nanokompozitů,
- charakterizaci připravených nanokompozitů,
- antibakteriálnímu testování připravených nanokompozitů.

3. *závěr* bude shrnovat výsledky teoretické a experimentální části bakalářské práce.

V experimentální práci budou připraveny nanokompozity CuO, ZnO, Zn-Cu-O, CuO/vermikulit, ZnO/vermikulit, Zn-Cu-O/vermikulit.

Připravené nanokompozity budou charakterizovány pomocí skenovací elektronové mikroskopie (SEM), rentgenové difrakční analýzy a infračervené spektroskopie (IČ) – Ramanovy spektroskopie. Na těchto nanokompozitech budou také testovány jejich antibakteriální vlastnosti.

## 2. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Experimentální část bakalářské práce byla vypracována v laboratořích Centra nanotechnologií (VŠB-TU Ostrava). Jednotlivé dílčí kroky jsou následně řazeny za sebou.

### 2.1. Mechanochemická příprava nanokompozitů

Pro mechanochemickou přípravu nanokompozitů byly použity chemikálie:  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{NaCl}$ ,  $\text{CuCl}_2$ ,  $\text{ZnCl}$  a vermikulit 407/08 Brazílie s frakcí pod  $40\mu\text{m}$ . Na analytických vahách byla navážena potřebná množství chemikálií pro přípravu vzorků  $\text{ZnO}$ ,  $\text{CuO}$ ,  $\text{Zn-Cu-O}$ ,  $\text{Zn-Cu-O/vermikulit}$ ,  $\text{ZnO/vermikulit}$  a  $\text{CuO/vermikulit}$ . Směsi byly připravovány vždy v poměru 1:1:1. Značení vzorků a jejich poměrové množství je uvedeno v Tab. 1.

**Tabulka 1:** Popis experimentálních vzorků.

Značení vzorků /	$\text{Na}_2\text{CO}_3$	$\text{NaCl}$	$\text{ZnCl}$	$\text{CuCl}_2$	vermikulit
$\text{ZnO/350}$	x	x	x		
$\text{CuO/350}$	x	x		x	
$\text{ZnO/vermikulit/350}$	x	x	x		x
$\text{CuO/vermikulit/350}$	x	x		x	x
$\text{Zn-Cu-O/350}$	x	x	x	x	
$\text{Zn-Cu-O/vermikulit/350}$	x	x	x	x	x

Tyto chemikálie byly pomlety v Planetovém mlýnu FRITSCH pulverisette 7 za použití achátových nádob a 7 achátových kuliček. Mletí bylo prováděno po dobu pěti minut při 250 otáčkách za minutu.

Vzorky byly sušeny na  $75^\circ\text{C}$ , následně pětkrát promyty v destilované vodě, přefiltrovány přes fritu a opět sušeny. Vysušené vzorky byly rozetřeny v achátové třecí misce a kalcinovány na  $350^\circ\text{C}$  po dobu 1,5 hodiny. Následně byly vzorky opět rozetřeny v achátové třecí misce.

## 2.2. Charakterizace nanokompozitů

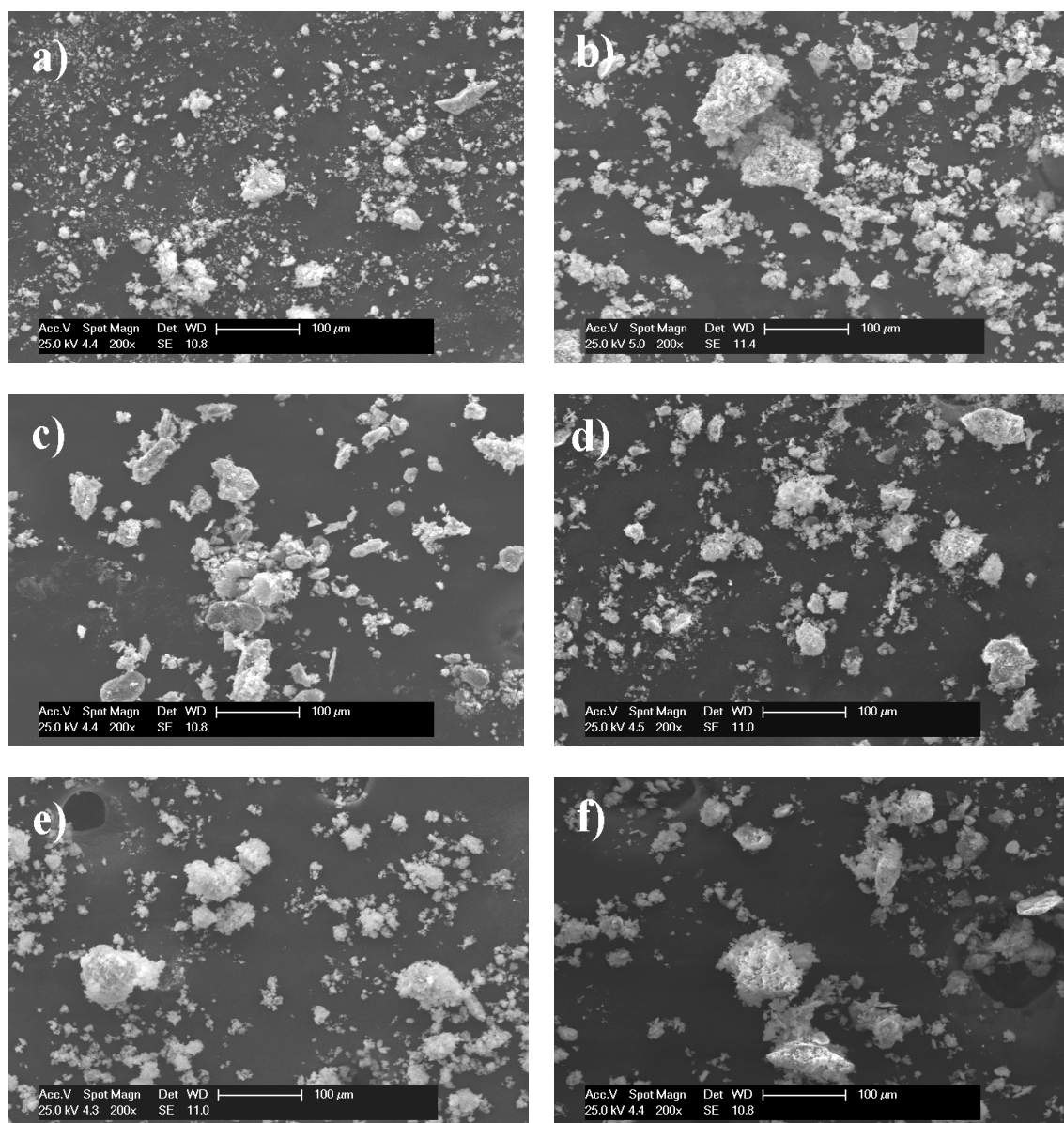
### 2.2.1. Skenovací elektronová mikroskopie

Činnost skenovacího elektronového mikroskopu (SEM) je založena na interakci elektronů s pevnou látkou. Elektrony, které jsou emitovány wolframovou katodou, jsou urychlovány urychlovacím napětím a elektromagnetickými čočkami koncentrovány do úzkého svazku dopadajícího na vzorek. Vychylovací čočky skenovacího systému svazek elektronů posunují po pozorované oblasti povrchu. Svazek tak projíždí bod po bodu. Při interakci elektronů s atomy materiálu jsou emitovány sekundární elektrony, které jsou detekovány detektorem sekundárních elektronů [25].

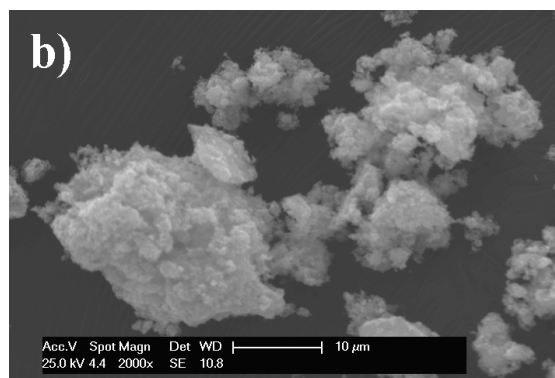
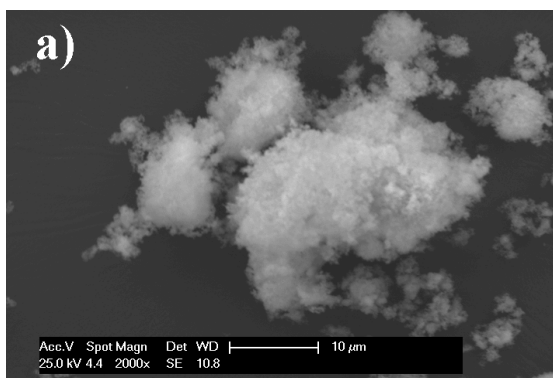
Připravené vzorky byly charakterizovány pomocí skenovacího elektronového mikroskopu PHILIPS XL-30 s rentgenovým spektrometrem EDAX (SEM) a detektorem sekundárních elektronů. Vzorky byly nanесeny na terčíky pokryté oboustrannou uhlíkatou páskou a dvakrát naprášeny v zařízení pro naprašování povrchu vzorků směsí zlato-paladium POLARON SC 7640. Vzorky byly vloženy do komory elektronového mikroskopu, která byla následně odvakuvána. Každý ze vzorků byl charakterizován při zvětšení 200x a 2000x.

Obr.10 shrnuje SEM snímky připravených vzorků při zvětšení 200x. Je patrné, že částice CuO a ZnO jsou tvořeny nehomogenně rozptýlenými shluky různých velikostí. Tato skutečnost je potvrzena rovněž z většího zvětšení (Obr. 11a)), kdy shluky částic CuO/350 jsou tvořeny menšími částicemi než shluky částic ZnO/350 (Obr.11b)).

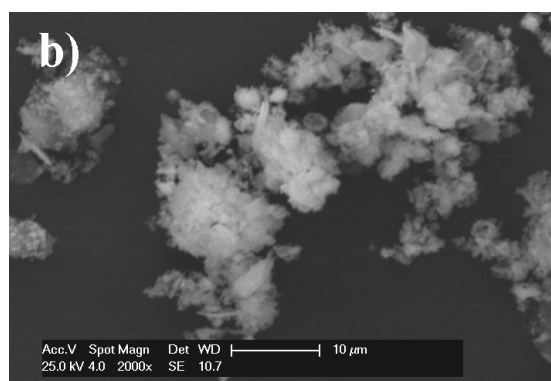
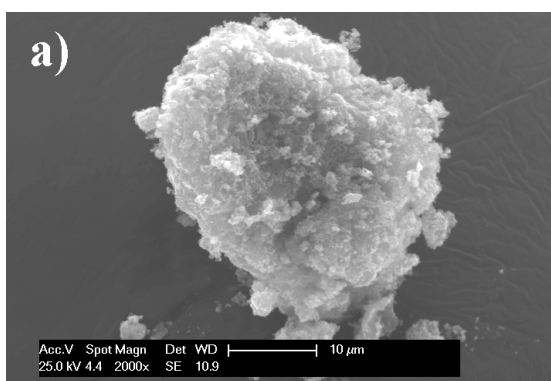
V případě nanokompozitů je patrné individuální rozmístění jednotlivých vermikulitových částic, které nevytvářejí shluky/agregáty (Obr. c,d,f)). Z detailních snímků (Obr. 12a,b) a 13b)) je patrné, že oxidy mědi a zinku přednostně vyrůstají na plochách vermikulitových podložek/matric. Současně tyto oxidy tvoří velmi jemné částice na těchto površích. Nanokompozit Zn-Cu-O/350 (Obr. 10e)) vytváří agregáty částic o přibližné velikosti 10  $\mu\text{m}$  (Obr. 13a)), které se dále shlukují.



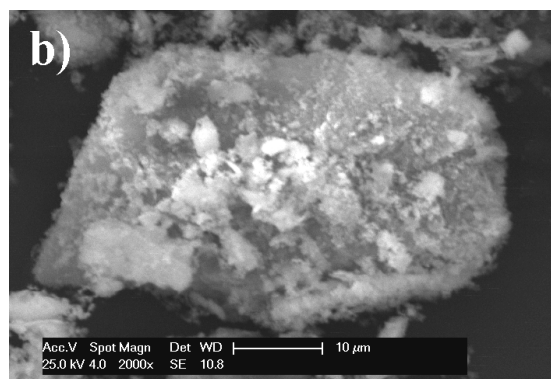
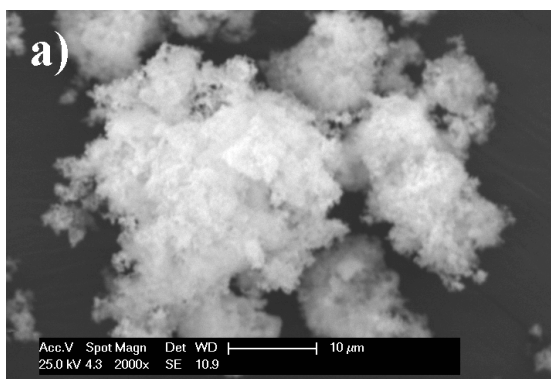
**Obr. 10:** SEM snímek: a) CuO/350, b) ZnO/350, c) ZnO/vermikulit/350, d) CuO/vermikulit/350, e) Zn-Cu-O/350, f) Zn-Cu-O/vermikulit/350.



**Obr. 11:** SEM snímek: a) CuO/350, b) ZnO/350.



**Obr. 12:** SEM snímek nanokompozitů: a) ZnO/vermikulit/350, b) CuO/vermikulit/350.



**Obr. 13:** SEM snímek nanokompozitů: a) Zn-Cu-O/350, b) Zn-Cu-O/vermikulit/350.



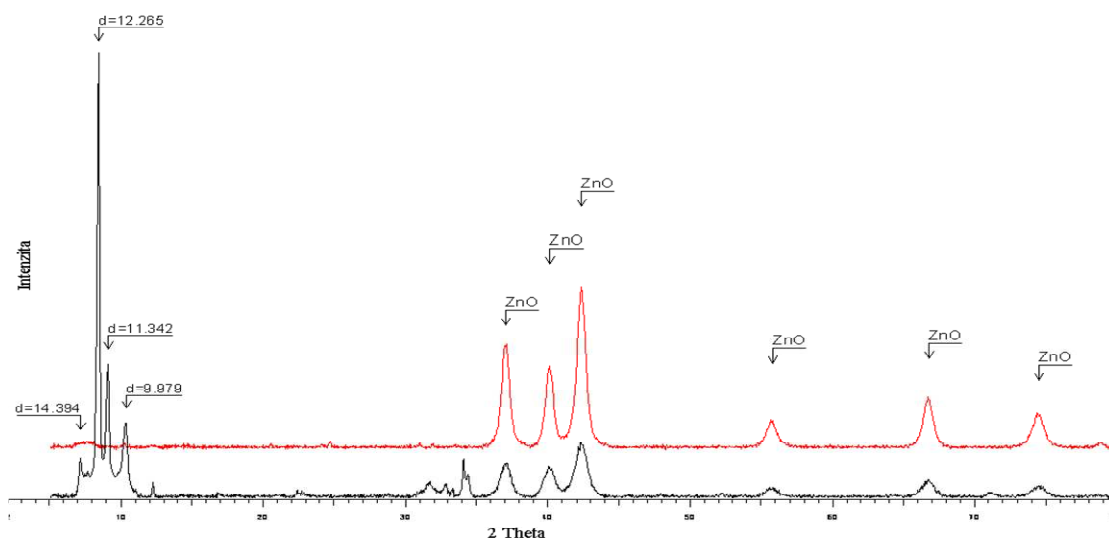
### 2.2.2. Rentgenová difrakční analýza - popis metody, výsledky

Tato nedestruktivní metoda je založená na principu difrakce rentgenového záření na krystalu. Rentgenové záření procházející látkou je rozptýlováno interakcí s elektrony jednotlivých atomů. Intenzita záření rozptýleného na daném atomu závisí na počtu elektronů v atomu a je tedy úměrná jeho atomovému číslu  $Z$ . V pravidelně prostorově uspořádané periodické struktuře krystalu záření rozptýlené na jednotlivých atomech vzájemně interferuje a ve směrech popsanych Braggovou rovnicí (14) dochází ke vzniku interferenčních maxim [26].

$$2d \cdot \sin \nu = n\lambda \quad (14)$$

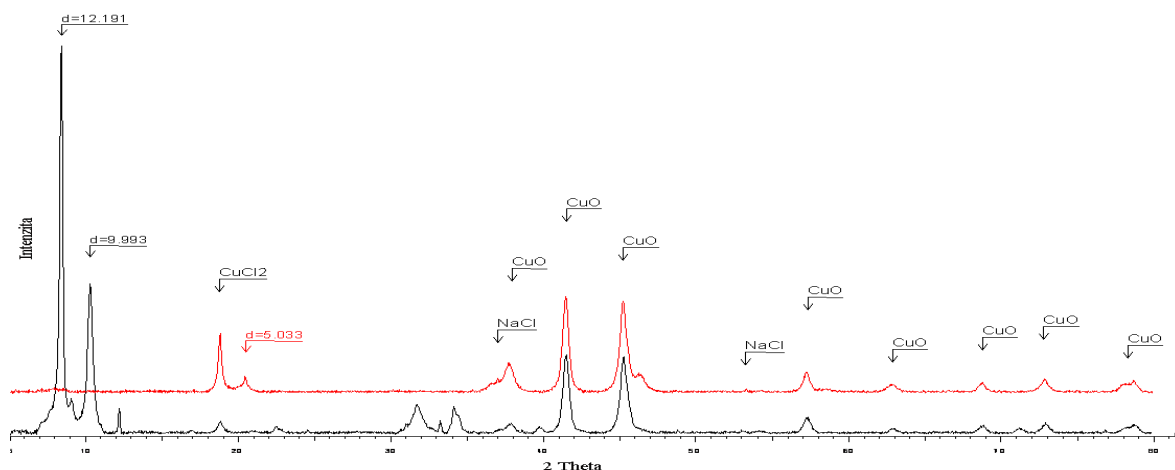
Tato interferenční maxima jsou zachycována detektorem. Jednotlivým difrakčním maximům jsou přiřazovány soustavy příslušných difrakčních rovin, kterým odpovídají a pomocí nich lze identifikovat krystalovou strukturu zkoumaného vzorku [26].

Vzorky byly měřeny na rentgenovém práškovém difraktometru BRUKER D8 ADVANCE s  $\text{CoK}(\alpha)$  lampou.



**Obr. 14:** Difrakční záznam ZnO (červený záznam), ZnO/vermikulit (černý záznam).

Z naměřených difrakčních záznamů pro ZnO a ZnO/vermikulit (Obr. 14) byla potvrzena přítomnost oxidu zinečnatého. Jeho přítomnost je vyznačena třemi hlavními píky o  $d = 3,701$ ,  $4,016$  a  $4,231$  nm. Nanokompozit ZnO/vermikulit je navíc charakteristický vermikulitovou maticí/podložkou, která je tvořena  $d = 1,439$ ,  $1,226$ ,  $1,134$  a  $0,998$  nm.

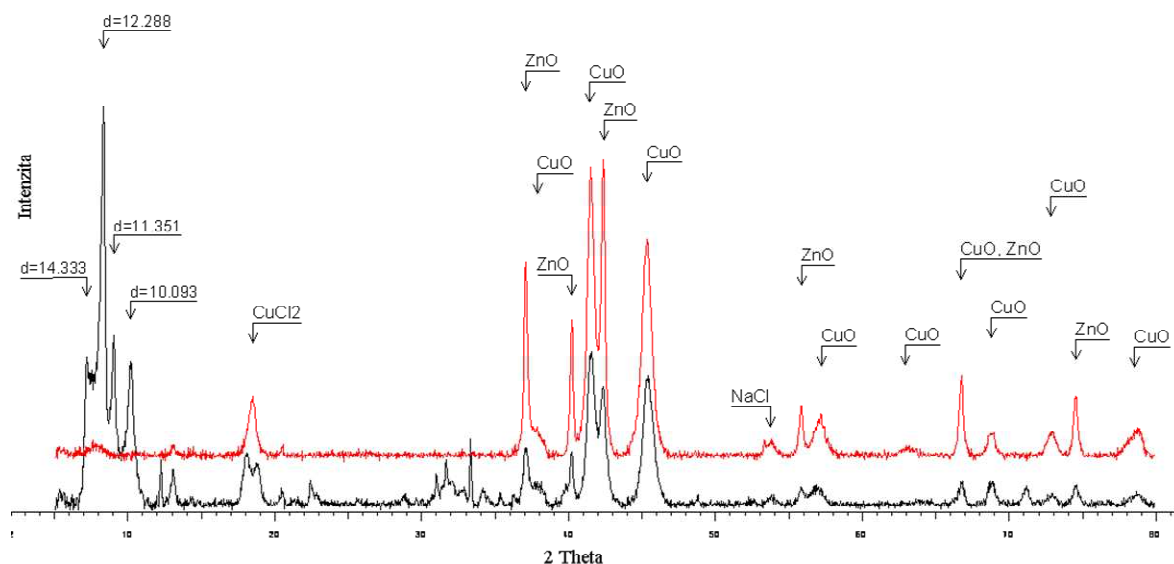


**Obr. 15:** Difrakční záznam CuO (červený záznam), CuO/vermikulit (černý záznam)

Na Obr. 15 je znázorněn difrakční záznam CuO a CuO/vermikulit. Zde je vidět kromě přítomnosti oxidu měďnatého také přítomnost chloridu sodného a chloridu měďnatého, které ve vzorku zůstaly důsledkem špatného promytí. Ve vzorku obsahujícím oxid měďnatý a vermikulit byla rovněž potvrzena přítomnost oxidu měďnatého, chloridu měďnatého, chloridu sodného. Přítomnost oxidu měďnatého je vyznačena píky o  $d = 4,235$  a  $4,227$  nm. Nanokompozit CuO/vermikulit je charakteristický vermikulitovou matricí/podložkou, která je tvořena  $d = 1,219$  nm, a  $0,999$  nm.

V těchto dvou vzorcích byl také naměřen pík  $d = 0,503$  nm, který se nepodařilo určit jaké sloučenině přísluší. Jedná se pravděpodobně o sloučeninu mědi, chloru a kyslíku, kterou se nepodařilo jasně identifikovat.

Na Obr. 16 je znázorněn difrakční záznam Zn-Cu-O a Zn-Cu-O/vermikulit. V tomto vzorku se podařilo potvrdit přítomnost oxidu měďnatého, oxidu zinečnatého a opět i chloridu měďnatého a chloridu sodného. Ve vzorku obsahujícím Zn-Cu-O a vermikulit byla rovněž potvrzena přítomnost oxidu měďnatého, chloridu měďnatého a chloridu sodného. Přítomnost oxidu měďnatého je vyznačena třemi hlavními píky o  $d = 3,791$ ,  $4,243$  a  $4,521$  nm a přítomnost oxidu zinečnatého píky o  $d = 3,708$ ,  $4,011$  a  $4,231$ . Nanokompozit Zn-Cu-O/vermikulit je charakteristický vermikulitovou matricí/podložkou, která je tvořena  $d = 1,433$ ,  $1,229$  a  $1,135$  nm. Na tomto obrázku je rovněž vidět, že intenzita vermikulitu je u tohoto vzorku znatelně menší než u předchozích. Tudíž v tomto vzorku se nachází poměrově více Zn-Cu-O, než CuO a ZnO ve vzorcích těchto látek připravených s vermikulitem.



**Obr. 16:** Difrakční záznam Zn-Cu-O (červený záznam), Zn-Cu-O/vermikulit (černý záznam).

### 2.2.3. Infračervené spektroskopie - popis metody, výsledky

Infračervená spektroskopie je nedestruktivní instrumentální metoda, která se používá pro identifikaci a strukturní charakterizaci organických a anorganických sloučenin. Podstata měření je založena na pohlcení infračerveného záření o různé vlnové délce analyzovaným materiálem [27,28]. Infračervené záření je záření o vlnové délce 0.78 – 1000  $\mu\text{m}$ , což odpovídá vlnovým číslům (vlnčet je převrácená hodnota vlnové délky) 12 800 – 10  $\text{cm}^{-1}$ . Celá oblast infračerveného záření bývá nejčastěji rozdělena na:

- blízkou („near IR“) : 12 800 – 4 000  $\text{cm}^{-1}$
- střední („mid IR“) : 4 000 – 200  $\text{cm}^{-1}$
- vzdálenou (far IR) : 200 – 10  $\text{cm}^{-1}$

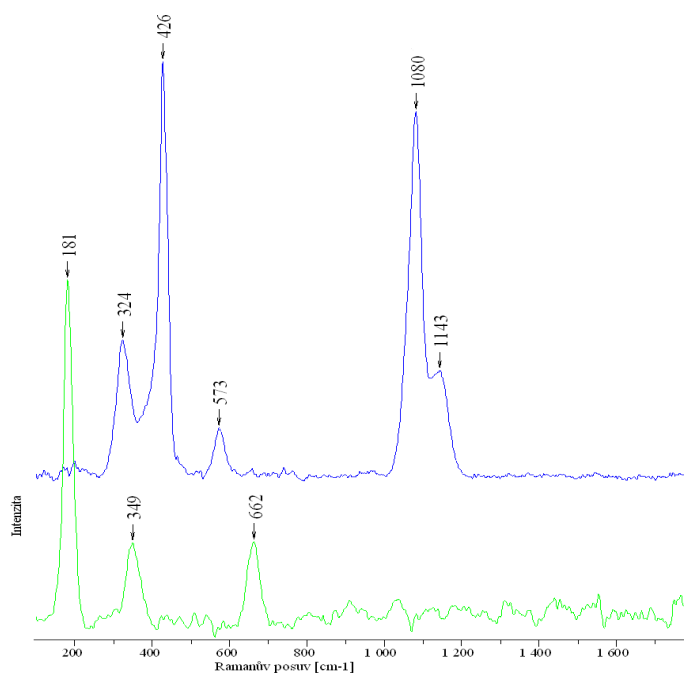
Nejčastěji používanou oblastí je oblast středního infračerveného záření. Principem metody je absorpce infračerveného záření při průchodu vzorkem. Při tomto jevu dochází ke změně rotačně vibračních stavů molekuly v závislosti na změnách dipólového momentu molekuly [27,28].

Připravené experimentální vzorky byly charakterizovány na konfokálním Ramanově mikroskopu XploRA™ (HORIBA Jobin Yvon, France). Součástí přístroje je optický mikroskop Olympus BX41/51 se třemi objektivy o zvětšení 10x, 100x a 50x. V tomto

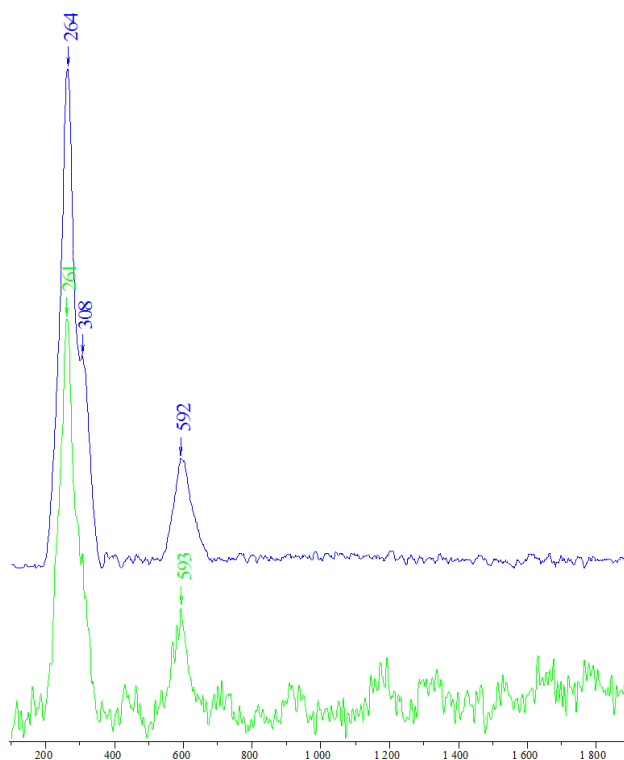
Marta Bukáčková: Nanokompozity na bázi oxidů kovů a jejich antibakteriální stabilita.

případě byl použit objektiv se zvětšením 50x, jako nejvhodnější pro práškové vzorky. Pro měření byl použit laser o vlnové délce 532 nm (20 – 25 mW, třída 3B). Detekce Ramanova záření probíhala na 1024 pixelovém 1“ CCD čipu, který je vysoce citlivý a vzduchem chlazený. Intenzita laseru byla regulována na 10% původního laserového záření. Spektra byla snímána desetkrát po dobu 10 s při nastavení mřížky s 1200 vrypů/mm. Přístroj je ovládán pomocí počítačového softwaru LabSpec, ve kterém byly prováděny i veškeré úpravy spekter (bylo srovnáno pozadí, byly označeny pozice pásů a byl upraven šum spekter).

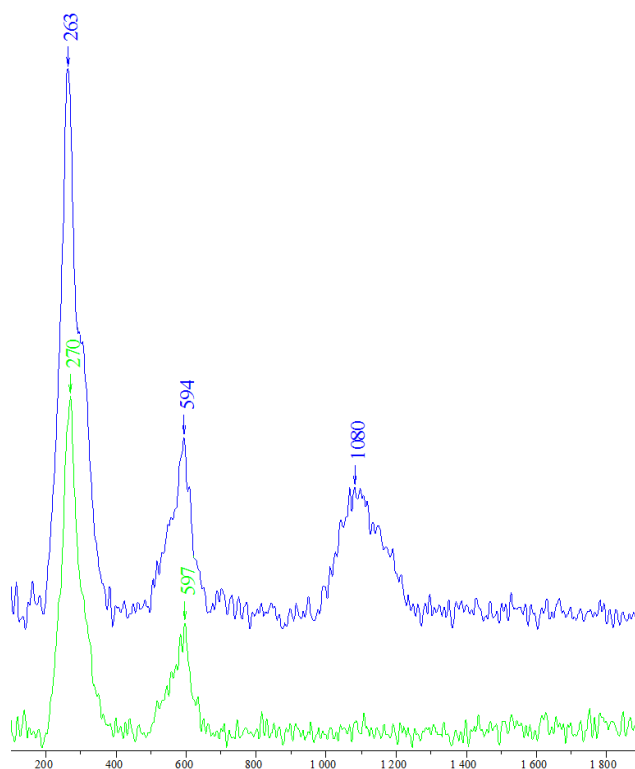
Z důvodu nutnosti analýzy kovů a jejich oxidů pomocí Ramanovy spektroskopie nebylo možné v této oblasti detekovat přítomnost vazeb (píků) vermikulitové matrice. Pro analýzu vermikulitu je běžně využívána infračervená spektroskopie ve střední oblasti „mid IR“) s detekční oblastí 4 000 – 200  $\text{cm}^{-1}$ . Záznam zde není uveden.



**Obr. 17:** Ramanovo spektrum ZnO (modrý záznam), ZnO/vermikulit (zelený záznam).



**Obr. 18:** Ramanovo spektrum CuO (modrý záznam), CuO/vermikulit (zelený záznam).



**Obr. 19:** Ramanovo spektrum Zn-Cu-O (modrý záznam), Zn-Cu-O/vermikulit (zelený záznam).

V Obr.17 u nanokompozitů ZnO a ZnO/vermikulit lze sledovat pík o vlnočtu  $\nu = 324$  a  $537 \text{ cm}^{-1}$  (modrý záznam) a  $\nu = 349$  a  $662 \text{ cm}^{-1}$  (zelený záznam), který odpovídá vazbě Zn-O. Na Obr. 18 u nanokompozitů CuO a CuO/vermikulit lze vidět pík o vlnočtu  $\nu = 264$  a  $592 \text{ cm}^{-1}$  (modrý záznam) a  $\nu = 261$  a  $593 \text{ cm}^{-1}$  (zelený záznam). Tyto záznamy odpovídají přítomnosti vazby Cu-O. Ve třetím záznamu na Obr. 19 můžeme vidět pík o vlnočtu  $\nu = 263 \text{ cm}^{-1}$  (modrý záznam) a  $\nu = 270 \text{ cm}^{-1}$  (zelený záznam), který odpovídá přítomnosti vazby Cu-O, pík o vlnočtu  $\nu = 594 \text{ cm}^{-1}$  (modrý záznam) a  $\nu = 597 \text{ cm}^{-1}$  (zelený záznam), který odpovídá přítomnosti vazby Cu-Cl-OH. Pík o vlnočtu  $\nu = 1080 \text{ cm}^{-1}$  (modrý záznam), který odpovídá přítomnosti směsných vazeb Zn-Cu.

### 2.3. Antibakteriální testy nanokompozitů

Antibakteriální testy nanokompozitů byly provedeny ve Zdravotním ústavu se sídlem v Ostravě.

Antibakteriální aktivita připravených vzorků byla zkoumána na bakteriích *Enterococcus faecalis*. Tyto bakterie patří do sekce grampozitivních koků způsobujících onemocnění jako jsou zánět srdeční nitroblány, infekce močového měchýře, a respirační choroby. Velikost buňky bakterie se pohybuje v rozmezí  $0,6\text{--}2,5 \text{ }\mu\text{m}$ . Tyto bakterie byly vystaveny působení připravených nanokompozitů po dobu 30, 60, 90, 120, 180, 240, 300 minut a 24 hodin při ředění připravených vzorků 10, 3,33, 1,11, 0,37, 0,12, 0,041 a 0,014  $\mu\text{g/ml}$ . Výsledky jsou znázorněny v Tab. 2 – Tab. 10.

**Tabulka 2:** Antibakteriální aktivita připravených nanokompozitů na bakterii *Enterococcus faecalis* po 30 minutách.

Enterococcus faecalis CCM 4224																		
30 MINUT																		
ředění µg/ml	ZnO			CuO			Zn-Cu-O			Zn-Cu-O/ ver			ZnO/ ver			CuO/ ver		
10	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
3,33	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
1,11	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
0,37	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
0,12	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
0,041	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
0.014	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

Marta Bukáčková: Nanokompozity na bázi oxidů kovů a jejich antibakteriální stabilita.

**Tabulka 3:** Antibakteriální aktivita připravených nanokompozitů na bakterii *Enterococcus faecalis* po 60 minutách.

Enterococcus faecalis CCM 4224																		
60 MINUT																		
ředění µg/ml	ZnO			CuO			Zn-Cu-O			Zn-Cu-O/ ver			ZnO/ ver			CuO/ ver		
10	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3,33	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1,11	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,37	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,12	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,041	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,014	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

**Tabulka 4:** Antibakteriální aktivita připravených nanokompozitů na bakterii *Enterococcus faecalis* po 90 minutách.

Enterococcus faecalis CCM 4224																		
90 MINUT																		
ředění µg/ml	ZnO			CuO			Zn-Cu-O			Zn-Cu-O/ ver			ZnO/ ver			CuO/ ver		
10	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
3,33	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1,11	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,37	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,12	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,041	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,014	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

**Tabulka 5:** Antibakteriální aktivita připravených nanokompozitů na bakterii *Enterococcus faecalis* po 120 minutách.

Enterococcus faecalis CCM 4224																			
120 MINUT																			
ředění µg/ml	ZnO			CuO			Zn-Cu-O			Zn-Cu-O/ ver			ZnO/ ver			CuO/ ver			
10	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
3,33	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
1,11	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,37	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,12	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,041	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,014	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

**Tabulka 6:** Antibakteriální aktivita připravených nanokompozitů na bakterii *Enterococcus faecalis* po 180 minutách.

Enterococcus faecalis CCM 4224																			
180 MINUT																			
ředění µg/ml	ZnO			CuO			Zn-Cu-O			Zn-Cu-O/ ver			ZnO/ ver			CuO/ ver			
10	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
3,33	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
1,11	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,37	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,12	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,041	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,014	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+



**Tabulka 7:** Antibakteriální aktivita připravených nanokompozitů na bakterii *Enterococcus faecalis* po 240 minutách.

Enterococcus faecalis CCM 4224																		
240 MINUT																		
ředění µg/ml	ZnO			CuO			Zn-Cu-O			Zn-Cu-O/ ver			ZnO/ ver			CuO/ ver		
10	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
3,33	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
1,11	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,37	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,12	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,041	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,014	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

**Tabulka 9:** Antibakteriální aktivita připravených nanokompozitů na bakterii *Enterococcus faecalis* po 300 minutách.

Enterococcus faecalis CCM 4224																		
300 MINUT																		
ředění µg/ml	ZnO			CuO			Zn-Cu-O			Zn-Cu-O/ ver			ZnO/ ver			CuO/ ver		
10	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
3,33	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
1,11	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,37	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,12	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,041	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,014	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

**Tabulka 10:** Antibakteriální aktivita připravených nanokompozitů na bakterii *Enterococcus faecalis* po 1 dni.

Enterococcus faecalis CCM 4224																		
1 DEN																		
ředění $\mu\text{g/ml}$	ZnO			CuO			Zn-Cu-O			Zn-Cu-O/ ver			ZnO/ ver			CuO/ ver		
10	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-
3,33	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
1,11	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,37	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,12	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,041	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,014	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Z experimentálně zjištěných výsledků lze zjistit, že největší antibakteriální aktivitu prokazuje připravený oxid měďnatý. Při ředění 10  $\mu\text{g}$  vzorku na 1 ml rozpouštědla vykazuje antibakteriální aktivitu již po 30 minutách působení. Po 90 minutách působení vykazuje antibakteriální aktivitu i vzorek CuO při ředění 3,33  $\mu\text{g}$  vzorku na 1 ml a vzorek CuO/vermikulit při ředění 10  $\mu\text{g}$  vzorku na 1 ml. Po 120 minutách vykazuje antibakteriální aktivitu vzorek CuO/vermikulit při ředění 3,33  $\mu\text{g}$  vzorku na 1 ml. Po době 300 minut vykazuje antibakteriální aktivitu i vzorek CuO při ředění 1,11  $\mu\text{g}$  vzorku na 1 ml. A po 24 hodinách působení vykazuje antibakteriální aktivitu i vzorek Zn-Cu-O a Zn-Cu-O/vermikulit při ředění 10  $\mu\text{g}$  vzorku na 1 ml.

## ZÁVĚR

V rámci bakalářské práce bylo připraveno šest experimentálních vzorků: ZnO, CuO, ZnO/vermikulit, CuO/vermikulit, Zn-Cu-O, Zn-Cu-O/vermikulit mechanochemickou syntézou.

Pomocí skenovací elektronové mikroskopie byly všechny připravené vzorky charakterizovány. Z pořízených snímků je patrné, že vzorky oxidů tvoří nehomogenně rozptýlené shluky příslušných oxidů různých velikostí. Oxidy připravené na vermikulitové matici jsou vypěstovány především na plochách vermikulitových matic.

Fázová složení připravených vzorků byla provedena pomocí rentgenové difrakční analýzy a Ramanovy spektroskopie. U připravených vzorků ZnO bylo potvrzeno předpokládané požadovaného složení, kdežto vzorky s CuO obsahovaly navíc i CuCl<sub>2</sub> a NaCl, která je ve vzorcích přítomna z důvodu nedostatečného promytí připravených vzorků.

Antibakteriální aktivita na kmeni *Enterococcus faecalis* byla prokázána především u vzorku oxidu měďnatého. Připravený oxid zinečnatý vůbec antibakteriální aktivitu ve sledovaném případě neprokazoval, protože nanokompozit ZnO má tu vlastnost, že působí jako antibakteriální materiál s tzv. postupným uvolňováním, to znamená, že jeho antibakteriální vlastnosti začaly působit až po uplynutí doby, po kterou byly prováděny antibakteriální testy. Vzhledem k tomu, že *Enterococcus faecalis* patří mezi nozokomiální kmeny bakterií, které se vyznačují rezistivitou vůči antibiotikům, je působení připravených nanokompozitů podstatné a použitelné k vývoji antibakteriálních látek, které by mohly výskyt těchto patogenních bakterií omezit. Nanokompozit Zn-Cu-O prokazoval antibakteriální aktivitu až po 24 hodinách působení a to pouze při nejmenším zředění 10 µg na 1 ml.

Deklarované cíle bakalářské práce byly splněny.

Tato bakalářská práce vznikla v rámci řešení projektu FR-TI3/818 „Externí fixace“ a projektu CZ.1.05/1.1.00/02.0070 IT4 Inovations Centre of Excellence project.

## Literatura

- [1] Shatkin, J. A. *Nanotechnology Health and Enviromental Risks*; CRC Press, 2008.
- [2] Hug, A. J.; Kwon, Y. J. “Nanoantibiotics”: *A new paradigm for treating infectious diseases using nanomaterials in the antibiotics resistant era*. J. Controlled Release 2011, 156, 128–145
- [3] Car, J. H. *MRSA*, 2005. Public Health Image Library. <http://phil.cdc.gov/phil/details.asp> (ze dne 12.3.2012).
- [4] Carr, J. *Escherichia coli*, 2006. Public Health Image Library. <http://phil.cdc.gov/phil/details.asp> (ze dne 28.3.2012).
- [5] Ma, Y.; Yang, B.; Guo, T.; Xie, L. *Antibacterial mechanism of Cu<sup>2+</sup>–ZnO/cetylpyridinium–montmorillonite in vitro*. Applied Clay Science 2010, 50, 348–353.
- [6] Reip, P.; Vargas-Reus, M.; Cheng, E. W. C.; Hu, D.; Allaker, R. P. *Characterisation of copper oxide nanoparticles for antimicrobial applications*. Int. J. Antimicrob. Agents 2009, 33, 587–590.
- [7] Gordona, E.; Felnerc, I.; Houbarab, O.; Perlsteina, B.; Margela, S. *Synthesis and characterization of zinc/iron oxide composite nanoparticles and their antibacterial properties*. Colloids Surf., A 2011, 374, 1–8.
- [8] Sharma, D.; Rajput, J.; Kaith, B.; Kaur, M.; Sharma, S. *Synthesis of ZnO nanoparticles and study of their antibacterial and antifungal properties*. Thin Solid Films 2010, 519, 1224–1229.
- [9] Products. *Zinc oxide*. <http://cn-zinc-oxide.com/product.htm> (ze dne 12.3.2012).
- [10] Gordona, E.; Felnerc, I.; Houbarab, O.; Perlsteina, B.; Margela, S. *Synthesis and characterization of zinc/iron oxide composite nanoparticles and their antibacterial properties*. Colloids Surf., A 2011, 374, 1–8.
- [11] Baek, Y. W.; An, Y. J. *Microbial toxicity of metal oxide nanoparticles (CuO, NiO, ZnO, and Sb<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) to Escherichia coli, Bacillus subtilis, and Streptococcus aureus*. Sci. Total Environ. 2011, 409, 1603–1608.

- [12] *Zinc oxide, nanopowder.* Alibaba.com. [http://www.alibaba.com/product-free/112911814/Zinc\\_oxide\\_nanopowder.html](http://www.alibaba.com/product-free/112911814/Zinc_oxide_nanopowder.html) (ze dne 29.3.2012).
- [13] Perelshtein, I.; Applerot, G.; Perkash, N.; Wehrschuetz-Sigl, E.; Hasmann, A.; Guebitz, G.; Gedanken, A. *CuO–cotton nanocomposite: Formation, morphology, and antibacterial activity.* *Surf. Coat. Technol.* 2009, 204, 54–57.
- [14] Li, Z.; Gong, P.; Zhai, Y.; *Effect of granularity on anti-oxidizing ability of copper nano-powder.* *Proceedings of Sino-Swedish Structural Materials Symposium.* 2007, 126-129
- [15] Kopeliovich, D. *Black copper oxide coating.* SubSTech. [http://www.substech.com/dokuwiki/doku.php?id=black\\_copper\\_oxide\\_coating](http://www.substech.com/dokuwiki/doku.php?id=black_copper_oxide_coating) . (ze dne 29.3.2012).
- [16] *Copper Oxide.* Alpha Chemicals. [http://alphachemicals.com/copper\\_oxide](http://alphachemicals.com/copper_oxide) (ze dne 12.3.2012).
- [17] Stránský, L.; Pospíšilová, S. *Krystalografie.* Ústav materiálových věd a inženýrství; Fakulta strojního inženýrství, Vysoké učení technické v Brně. <http://ime.fme.vutbr.cz/files/Studijni%20opory/bum/03-Krystalografie%20studijni%20opora.pdf> (ze dne 28.3.2012).
- [18] Zhang, D. *Synthesis and characterization of ZnO-doped cupric oxides and evaluation of their photocatalytic performance under visible light.* *Transition Met Chem.* 2010, 35, 689-694.
- [19] Drelich, J.; Li, B.; Bowen, P.; Hwang, J.-Y.; Mills, O.; Hoffman, D. *Vermiculite decorated with copper nanoparticles: Novel antibacterial hybrid material.* *Applied Surface Science.* 2011, 257, p. 9435– 9443.
- [20] *Hydroponic Medium Types : Vermiculite.* *Hydroponics Center.* <http://www.hydroponics-center.com/2011/06/hydroponic-medium-types-vermiculite.html> (ze dne 12.3.2012).
- [21] Weiss, Z.; Kužvart, M. *Jílové minerály jejich nanostruktura a využití*, 1. vydání; Karolinum: Praha, 2005.

- [22] Mouzdahir, Y. E.; Korili, S. A.; Gil, A.; Mahboub, R.; Elmchaouri, A. *Synthesis of nano-layered vermiculite of low density by thermal treatment*. Powder Technol. 2009, 189, 2–5.
- [23] Vizcayno, C.; Castello, R.; Ranz, I.; Calvo, B. *Some physico-chemical alterations caused by mechanochemical treatments in kaolinites of different structural order*. Thermochim. Acta 2005, 428, 173–183.
- [24] Tsuzuki, T.; McCormick, P. G. *Mechanochemical synthesis of nanoparticles*. Mechanochemistry and mechanical alloying 2003, 39, 5143–5146.
- [25] Kraus, I.; Frank, H.; Kratochvílová, I. *Úvod do fyziky pevných látek*, 2. vydání; Česká technika-nakladatelství ČVUT: Praha, 2009
- [26] *Rentgenová spektroskopie a difrakce*.  
[http://physics.mff.cuni.cz/vyuka/zfp/txt\\_421.pdf](http://physics.mff.cuni.cz/vyuka/zfp/txt_421.pdf) (ze dne 29.3.2012).
- [27] Socrates, G. *Infrared and Raman Characteristic Group Frequencies: Tables and Charts*, 3. vydání; Wiley, 2004.
- [28] Matějka, P.; Žvátora, P. *Ramanova spektrometrie*, 2012. Ústav analytické chemie VŠCHT Praha. <http://www.vscht.cz/anl/lach2/RAMAN.pdf> (ze dne 28.3.2012).